

MARCELLO BINI

**CARACTERÍSTICAS INFLAMATÓRIAS DAS
EXACERBAÇÕES MODERADAS E GRAVES DE ASMA**

**Trabalho apresentado à Universidade Federal
de Santa Catarina, para a conclusão do Curso
de Graduação em Medicina.**

Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina
2003

MARCELLO BINI

**CARACTERÍSTICAS INFLAMATÓRIAS DAS
EXACERBAÇÕES MODERADAS E GRAVES DE ASMA**

**Trabalho apresentado à Universidade Federal
de Santa Catarina, para a conclusão do Curso
de Graduação em Medicina.**

Presidente do Colegiado:	Prof. Dr. Edson José Cardoso
Orientador:	Dra. Marcia Margaret Menezes Pizzichini
Co-orientadores:	Dr. Emilio Pizzichini
	Dra. Leila John Marques Steidle

Florianópolis
Universidade Federal de Santa Catarina
2003

Bini, Marcello.

Características Inflamatórias das Exacerbações Moderadas e Graves de Asma / Marcello Bini. – Florianópolis, 2003.
32 p.

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso) –
Universidade Federal de Santa Catarina – Curso de Graduação
em Medicina.

1.Asma. 2.Escarro. 3.Eosinófilos. 4.Neutrófilos.
5.Inflamação.
I. Título.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre indicar-me o caminho correto.

Aos meus orientadores, Dra. Marcia Margaret Menezes Pizzichini, Dr. Emilio Pizzichini e em especial à Dra. Leila John Marques Steidle por toda paciência, dedicação e principalmente amizade. São profissionais exemplares e de coração enorme.

À equipe do NUPAIVA, Janara Voltolini e Cristiane Cinara Rocha, que muitas vezes se dispuseram a ajudar na coleta dados. À Sra. Célia Tania Zimmermann pelo processamento dos materiais coletados. À Juliana K Silva, Vivian Menegassi, Gustavo E de Los Santos e Ricardo X Malinverni pela colaboração no estudo.

Aos meus pais, Edson Luiz Bini e Rosa Maria Bini, e minhas irmãs Jacqueline Bini, Larissa Bini Puzzo e Cenira Gabriela Bini agradeço por tudo. Obrigado por acreditarem em meu sonho e vivenciá-lo juntos. Por estarem sempre à disposição quando necessitei, sem medirem esforços. O amor de vocês me fez uma pessoa melhor.

À Pryscila de Souza Droppa, pela compreensão e carinho nas horas que mais precisei.

Aos meus amigos de turma, por tornarem os anos de faculdade mais agradáveis.

SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
SUMMARY.....	v
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVOS.....	05
2.1 Primário.....	05
2.2 Secundário.....	05
3. MÉTODOS.....	06
3.1 Participantes.....	06
3.2 Delineamento do estudo.....	07
3.3 Métodos clínicos.....	07
3.4 Análise estatística.....	10
4. RESULTADOS.....	11
4.1 Características inflamatórias das exacerbações.....	11
4.2 Características clínicas dos participantes de acordo com o tipo inflamatório da exacerbação.....	12
5. DISCUSSÃO.....	19
6. CONCLUSÕES.....	22
7. REFERÊNCIAS.....	23
NORMAS ADOTADAS.....	27

RESUMO

Introdução: A inflamação das vias aéreas constitui o mais importante fator para o entendimento da asma. Recentemente as exacerbações de asma têm sido caracterizadas como eosinofílicas ou não-eosinofílicas, baseadas na proporção de eosinófilos ($\geq 3\%$) no escarro.

Objetivos: Examinar parâmetros clínicos e marcadores inflamatórios celulares no escarro de participantes com exacerbações moderadas e graves de asma (EMGA).

Métodos: Cinquenta e cinco exacerbações foram analisadas em 48 pacientes selecionados. EMGA foram definidas pela presença de sintomas noturnos, e/ou a necessidade de β_2 -agonistas de curta-duração (≥ 8 jatos/dia) e volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF₁) pós-broncodilatador $< 70\%$ e $< 60\%$ do previsto, respectivamente. Os escarros foram induzidos, após coleta de dados clínicos, por método modificado para intensificar a segurança do procedimento. A contagem diferencial de células foi realizada em citocentrifugados corados pelo Giemsa.

Resultados: Expressos através da mediana e amplitude do semiquartil. Trinta e sete exacerbações (67,3%) foram eosinofílicas, com contagem total celular de $10,2 \times 10^6$ células/mg e viabilidade celular de 78,9%. As não-eosinofílicas foram caracterizados por contagem de $31,8 \times 10^6$ células/ml e viabilidade de 90,4%. A proporção de eosinófilos e neutrófilos foram estatisticamente diferentes nas exacerbações eosinofílicas (30%, 23%) e não-eosinofílicas (1%, 64%). Os parâmetros clínicos não evidenciaram significância estatística entre EMGA eosinofílicas e não-eosinofílicas.

Conclusões: EMGA podem se apresentar com padrão não-eosinofílico. Aquelas não-eosinofílicas apresentam escarro rico em neutrófilos e elevado número de células. Não foi possível discriminar, baseado nos parâmetros clínicos analisados, o tipo de inflamação das vias aéreas presente nas EMGA. Futuras implicações terapêuticas necessitam de novas investigações.

SUMMARY

Introduction: Airway inflammation is considered to be the most important factor of asthma understanding. Recently, the exacerbation of asthma has been characterized as eosinophilic or non-eosinophilic, based on the proportions of eosinophils ($\geq 3\%$) in the sputum.

Objectives: To examine the clinical parameters and inflammatory cellular markers in the sputum of subjects with moderate and severe exacerbation of asthma (MSEA).

Methods: Fifty five exacerbations were examined in 48 recruited patients. MSEA were defined by the presence of nocturnal symptoms, and/or the need of short acting β_2 -agonist (> 8 puffs/day), and force expiratory volume in one second (FEV₁) after bronchodilator $< 70\%$ and 60% of predicted, respectively. Sputum was induced, after clinical parameters documentation, by a modified method to increment the safety of the procedure. The differential cell count was performed on Giemsa-stained cytopins.

Results: Expressed by median and Interquartil Range. Thirty seven (67,3%) exacerbations were eosinophilic, with total cell count of $10,2 \times 10^6$ cells/mg and cell viability of 78,9%. The non-eosinophilic exacerbations showed total count of $31,8 \times 10^6$ cells/ml and viability of 90,4%. The proportions of eosinophils and neutrophils were significantly different between the eosinophilic (30%, 23%) and non-eosinophilic (1%, 64%) exacerbations. The clinical parameters did not show statistic significance between eosinophilic and non-eosinophilic MSEA.

Conclusions: MSEA can be presented as non-eosinophilic pattern. The non-eosinophilic exacerbations showed elevated sputum neutrophils and increased number of cells. It was impossible to distinguish the type of airway inflammation, based on the examined clinical parameters. Future therapeutic implications need to be investigated.

1. INTRODUÇÃO

A asma é considerada uma entidade nosológica complexa e multifatorial que acomete cada vez mais pessoas em todo o mundo. Esta complexidade tem dificultado a uniformização de sua definição. Sabe-se hoje que a asma possui vários fenótipos, expressando seus componentes inflamatório, obstrutivo e de hiperresponsividade brônquica de maneiras diferentes ¹. Gross ² tentou expressar essa complexidade através da seguinte definição romântica: “Asma é como o amor. Todos sabem o que é, porém ninguém consegue defini-la”.

A asma tem sido definida como “alteração crônica inflamatória das vias aéreas, na qual várias células estão envolvidas, especialmente mastócitos, eosinófilos e linfócitos T. Em indivíduos susceptíveis, esta inflamação causa episódios recorrentes de sibilos, dispnéia, sensação de opressão torácica e tosse, particularmente à noite e/ou pela manhã. Estes sintomas estão freqüentemente associados à obstrução das vias aéreas em graus variáveis, que é, ao menos parcialmente, reversível espontaneamente ou com tratamento. A inflamação também causa um aumento da responsividade das vias aéreas a uma variedade de estímulos” ³.

A asma constitui, atualmente, um importante problema de saúde pública. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), 100 a 150 milhões de pessoas no mundo sofrem de asma, com incidência variando entre 10 e 15%, gerando gastos que superam aos da tuberculose e HIV/AIDS ¹. Dados atuais têm evidenciado que o número de óbitos é relativamente baixo (mais de 180.000 pessoas por ano, até o final dos anos 90), porém com sinais de crescimento em diversos países e regiões ^{1, 3, 4}. A morbidade está relacionada a vários fatores como prevalência e incidência, grau de gravidade da doença, serviço de saúde, uso de medicamentos, custo e qualidade de vida.

A incidência da asma no Brasil não difere da média mundial e varia dependendo de condições regionais. Segundo o Ministério da Saúde, no Brasil a cada ano cerca de 2.500 pessoas morrem em crise de asma. Além disso, há cerca de 350.000 internações anuais pela doença, situando-se entre a terceira ou quarta causa de internação pelo SUS (Sistema Único de Saúde) ⁴. Segundo o DATASUS ⁵, no ano de 2000 os gastos com hospitalizações devido a asma chegaram a mais de 115 milhões de reais, e foi a segunda maior causa de internação dentre as doenças do aparelho respiratório.

Assim, um atendimento médico regular, acompanhado do fornecimento de medicamentos eficazes e incentivo à pesquisa na área, visando o controle das exacerbações e a diminuição do número de pacientes complicados, deveria ser parte de um plano assistencial efetivo promovido pelas autoridades.

Atualmente existem evidências suficientes para suportar o conceito de que o processo inflamatório das vias aéreas é responsável, direta ou indiretamente, pelos sintomas, anormalidades fisiológicas (limitação variável ao fluxo de ar e hiperresponsividade brônquica) e pela gravidade da asma. A resposta inflamatória na asma consiste, caracteristicamente, de: 1) infiltração de eosinófilos ativados, linfócitos e mastócitos; 2) secreção ou liberação de produtos celulares pró-inflamatórios [como proteínas catiônicas eosinofílicas (ECP), proteína básica principal (MBP), neurotoxina derivada do eosinófilo (EDN)] e a elastase e mieloperoxidase (MPO) neutrofílicas etc; e interleucinas [IL] – [IL-2, IL-4, IL-5, GM-CSF (fator estimulante de colônias de granulócitos e mastócitos)]; 3) aumento da permeabilidade vascular com exsudação e plasma; 4) hipersecreção brônquica; 5) alterações estruturais que incluem a descamação fragmentar do epitélio das vias aéreas, espessamento da membrana basal e hipertrofia da musculatura lisa das vias aéreas ^{6,7}.

Exacerbações moderadas e graves de asma (EMGA) variam de acordo com a intensidade e frequência dos sintomas, considerando parâmetros como: dispnéia moderada ou grave, sibilância diminuída em alguns casos, desconforto torácico, dificuldade na fala, utilização de musculatura acessória e diminuição da saturação de oxigênio (abaixo de 90%), dentre outros ⁴. Inflamação intensa e ativa existe nas vias aéreas destes asmáticos. Os achados patológicos clássicos dos asmáticos gravemente exacerbados foram inicialmente estudados através de exame de espécimes *post-mortem* de indivíduos com asma fatal ⁸. As principais alterações observadas *post-mortem* incluem a presença de um exsudato viscido no lúmen brônquico composto de muco, eosinófilos e células broncoepiteliais, espessamento da membrana basal, eosinofilia tissular, hipertrofia da camada muscular lisa dos brônquios e dilatação dos capilares sanguíneos pulmonares ⁹. Estudos recentes de necropsias têm mostrado achados heterogêneos na asma fatal, incluindo a presença de eosinófilos ativados, um incremento da razão entre linfócitos T/B, proeminente infiltração leucocitária ^{10, 11} e em alguns casos um predomínio absoluto de neutrófilos em relação a eosinófilos ¹². Contudo, é incerto se as alterações inflamatórias vistas nessas circunstâncias são qualitativamente ou

quantitativamente similares àquelas observadas em exacerbações graves, porém não-fatais, de asma.

Os recentes consensos para o manuseio da asma adicionaram à sua definição presença de um infiltrado brônquico de células inflamatórias. Estes consensos também indicam que o tratamento ideal da asma deve ser direcionado primariamente à redução do processo inflamatório a um mínimo¹³. Contudo, não tem sido possível, pelo menos na prática diária da clínica, medir índices de inflamação das vias aéreas diretamente. Como alternativa, a presença ou ausência do processo inflamatório tem sido inferida a partir de sintomas, de índices indiretos do processo inflamatório ou pela resposta ao tratamento administrado. Assim, com o reconhecimento da inespecificidade destes marcadores indiretos em traduzir o processo inflamatório, surgiu a necessidade de uma medida mais real e fiel dos índices de inflamação¹⁴.

Até um passado recente as medidas diretas do processo inflamatório na asma, eram obtidas exclusivamente através de procedimentos invasivos usando a broncoscopia para obtenção de tecido brônquico ou o líquido do lavado broncoalveolar (LBA)^{15,16}. Consequentemente, as medidas eram restritas a indivíduos com asma leve ou moderada e seu uso repetido, em um mesmo indivíduo, era limitado. Mais recentemente, refinamentos na técnica de obtenção e processamento do escarro, colocaram à nossa disposição um novo instrumento para medir a inflamação das vias aéreas. O exame dos componentes celulares e da fase líquida do sobrenadante no escarro induzido tem se mostrado reprodutível, válido e responsivo a mudanças longitudinais^{9, 17, 18, 19, 20, 21}. Por ser não invasivo, ele pode ser aplicado em indivíduos com asma de diferentes graus de gravidade, e repetidamente, para investigar a seqüência de alterações dos índices inflamatórios após diferentes intervenções, como por exemplo o uso de medicação^{18,22}.

Até o momento existem fortes evidências de que o eosinófilo está associado à sintomatologia da asma. Dentre os componentes celulares, este tem sido considerado o principal marcador do processo inflamatório das vias aéreas. É a célula que se destaca na resposta inflamatória diferenciando os pacientes asmáticos dos indivíduos saudáveis. Alguns trabalhos têm mostrado este marcador como responsivo à utilização de corticoterapia nas exacerbações, bem como sua elevação precoce em situações da tentativa de retirada deste medicamento de pacientes asmáticos dependentes de prednisona^{23, 24, 25}. Entretanto o real papel do eosinófilo ainda não está totalmente esclarecido. Os eosinófilos do escarro e seus

mediadores parecem ser apenas uma parte da heterogênea resposta inflamatória presente na asma⁴.

Turner e colaboradores estudaram pacientes com exacerbações leves e moderadas de asma e evidenciaram que, embora os indivíduos estivessem exacerbados, nem todos apresentavam eosinofilia no escarro e que alguns apresentaram um processo inflamatório caracterizado por aumento de neutrófilos no escarro. A partir destes dados começou-se a questionar e investigar a participação de outras células no complexo processo da inflamação da asma²⁶.

Mais recentemente as alterações inflamatórias que ocorrem em exacerbações moderadas e graves de asma têm sido estudadas através do exame do escarro^{18, 26, 27, 28, 29}. Os resultados, contudo, têm sido conflitantes. Um estudo utilizando o exame do escarro em 10 pacientes portadores de exacerbações graves da asma, demonstrou que os eventos inflamatórios nas vias aéreas destes pacientes eram caracterizados por infiltração rica em eosinófilos e um marcado aumento da permeabilidade vascular medido por elevadas concentrações de fibrinogênio¹⁸. Em contraste, Fahy *et al.* estudando asmáticos que procuraram um serviço de emergência devido a sintomas de asma, relataram a presença de inflamação predominantemente neutrofílica no escarro destes pacientes²⁷. Um outro trabalho desenvolvido por Pizzichini MMM *et al.* examinou exacerbações moderadas e graves de asma associadas a um quadro de infecção viral das vias aéreas²⁸. Neste estudo o tipo de inflamação encontrada foi predominantemente neutrofílica, inflamação esta, acompanhada de elevados níveis de IL-8 e fibrinogênio.

É provável que diferentes causas de exacerbação da asma possam induzir a respostas inflamatórias distintas³⁰. Além disso, a prevalência dos diferentes tipos inflamatórios na exacerbação da asma ainda é desconhecida. Assim sendo, este estudo transversal avaliou e comparou as características clínicas e inflamatórias das exacerbações moderadas e graves de asma.

2. OBJETIVOS

2.1 Primário

Examinar as características clínicas e marcadores inflamatórios celulares do escarro de asmáticos com exacerbações moderadas e graves de asma.

2.2 Secundário

Comparar algumas características clínicas e inflamatórias entre grupos de exacerbações moderadas e graves de asma de padrão eosinofílico e não-eosinofílico.

3. MÉTODOS

3.1 Participantes

Todos os pacientes foram atendidos no Núcleo de Pesquisa em Asma e Inflamação das Vias Aéreas (NUPAIVA), do Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago, Florianópolis, Santa Catarina. Os participantes foram recrutados no período de setembro de 2001 a novembro de 2002 e selecionados entre pacientes do ambulatório de asma do Hospital Universitário da UFSC, do Serviço de Emergência Médica do HU-UFSC e do ambulatório de pneumologia do Hospital.

Participaram do estudo 51 pacientes adultos, com idade entre 18 e 60 anos, sendo 16 do sexo masculino. Dentre estes, 48 foram selecionados. Dezesesseis indivíduos eram ex-fumantes com carga tabágica inferior a 10 maços/ano; 3 participantes eram fumantes ativos, porém apresentavam história clínica e reversibilidade ao fluxo de ar avaliado na espirometria após o uso de broncodilatador o que justificou a inclusão dos mesmos no estudo.

A asma foi caracterizada clinicamente pela presença de episódios de dispnéia, sibilância, opressão torácica nos últimos 12 meses e confirmada por medidas objetivas através de teste de função pulmonar, observando a relação VEF_1 (volume expiratório forçado no primeiro segundo)/ CVF (capacidade vital forçada) $< 0,70$ ou $VEF_1 < 70\%$ do previsto; e/ou uma reversibilidade ao fluxo de ar após inalação de 200 mcg de β_2 -agonista de ação curta, em relação ao valor previsto de 15% ou 200 ml no VEF_1 .

As exacerbações moderadas da asma foram clinicamente definidas por sintomas como despertares noturnos e/ou necessidade crescente de uso de β_2 -agonista de curta duração e uma espirometria com $VEF_1 < 70\%$ do previsto após o uso de 200 mcg de salbutamol inalado por um espaçador valvar de grande volume. As exacerbações graves de asma foram avaliadas pelos mesmos critérios empregados para asma moderada, porém com sintomatologia mais exuberante e $VEF_1 < 60\%$ do previsto após o uso do β_2 -agonista.

Foram excluídos do estudo todos os pacientes com carga tabágica acima de 10 maços/ano, ou presença de outra doença pulmonar crônica conhecida (como pneumonite, bronquite crônica e DPOC), comorbidades sistêmicas, uso de medicamentos que pudessem alterar os resultados do estudo e gestantes.

Todos os participantes preencheram os critérios pré-estabelecidos de inclusão e exclusão propostos e, após explicação sobre o estudo, assinaram o consentimento livre esclarecido. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina.

3.2 Delineamento do estudo

Neste estudo transversal avaliou-se consecutivamente asmáticos portadores de exacerbações moderadas a grave da asma que se apresentaram ao NUPAIVA, no Hospital Universitário Professor Polydoro Ernani de São Thiago, Florianópolis, Santa Catarina.

Todas as medidas foram obtidas em uma única visita. As medidas dos parâmetros clínicos e inflamatórios foram realizadas antes do tratamento ser iniciado. Após a indução do escarro, os pacientes foram medicados com corticosteróide oral por 7 dias. Completado o ciclo com o tratamento oral, uma corticoterapia inalatória foi prescrita. Os participantes foram revistos após 21 dias para controle do tratamento utilizado e reavaliação clínica. A avaliação dos índices inflamatórios foi realizada às cegas das medidas clínicas.

3.3 Métodos clínicos

Parâmetros clínicos

No dia de inclusão no estudo cada participante foi submetido aos seguintes procedimentos: 1- avaliação clínica detalhada com questionário de perguntas objetivas envolvendo cronologia, sintomatologia, gravidade, história de atopia e tratamentos realizados anteriormente; 2- investigação quanto à possível causa desencadeante da última exacerbação; 3- preenchimento de uma escala específica e validada sobre “História e Gravidade dos Sintomas de Gripe ou Resfriado”³¹ e discriminação de medicamentos; 4- avaliação sobre sintomas respiratórios de asma na última semana, segundo a escala de Likert ³²; 5- aplicação do “Questionário de Controle de Asma (QCA)” ³³; 6- exame físico com aferição de sinais vitais; 7- espirometria com prova broncodilatadora; 8- coleta de amostra de sangue periférico

para hemograma; 9- coleta do escarro, espontâneo e/ou induzido; 10- exames de imagem como radiografia de tórax e seios da face.

Espirometria

As espirometrias foram realizadas de acordo com as especificações da American Thoracic Society (ATS)³⁴ tendo sido utilizado um espirômetro computadorizado (Koko® Spirometer, PDS Instrumentation, Louisville, USA). Após realizadas três expirações forçadas, o melhor valor reprodutível e com amplitude menor que 5% foi considerado como o VEF₁ basal. A reversibilidade foi comprovada 15 minutos após a inalação de 200mcg de salbutamol liberados através de um dispositivo pressurizado/dosimetrado e com auxílio de um espaçador para melhorar a administração do medicamento (Aerochamber®, Trudell Medical Internacional, London, On, Canada). Os valores previstos para o exame foram obtidos segundo Capro *et al.*³⁵.

Questionário de Controle de Asma (QCA)

O QCA, idealizado por Juniper *et al.*³³ foi elaborado para avaliar o grau de controle da asma, incluindo limitação ao fluxo de ar e uso de medicação de alívio. Seis questões objetivas auto-explicativas devem ser respondidas pelo paciente e uma questão (valor do FEV₁ pré-broncodilatador) deve ser completada pelo investigador. O participante responde de acordo com uma escala gradativa crescente de gravidade de sintomas que vai pontuando cada questão de 1 a 6. O resultado das pontuações somadas é dividido por 7, considerando-se ≥ 2 = asma não controlada.

Indução do escarro

Na ausência de escarro espontâneo foi realizada indução do escarro de acordo com o método modificado para pacientes com exacerbação de asma ou limitação grave ao fluxo de ar das vias aéreas¹⁸. O procedimento consistiu da inalação de um aerossol de solução salina isotônica (0,9%) seguida por solução salina hipertônica (3 e 4%), produzido por um nebulizador ultra-sônico Fisoneb® (Canadian Medical Products, Ltd., Markham, Ontario). A

inalação do aerossol foi mantida inicialmente por 30 segundos e aumentada gradativamente para 1, 2, 4 e 5 minutos, de acordo com a gravidade da broncoconstricção presente antes do procedimento³⁶. Registrou-se o VEF₁ após cada etapa da indução. O participante do estudo foi instruído a tossir para obtenção do escarro. Estes procedimentos foram consecutivamente repetidos aumentando-se a concentração da solução a cada 7 minutos até a obtenção de escarro suficiente para análise ou até uma queda do VEF₁ de 20% ou mais em relação ao valor basal.

Processamento do escarro

O escarro foi processado dentro de 2 horas, pela técnica descrita por Pizzichini *et al.*¹¹. Inicialmente, as porções densas do material expectorado foram selecionadas a olho nu ou, se necessário, sob visualização através de um microscópio invertido, usando-se um fórceps de 115 mm para separar o escarro da saliva. A seleção do escarro diminui a contaminação por células escamosas presentes na saliva³⁷. A fração selecionada foi colocada em um tubo de poliestireno de 15 ml e tratada com 4 vezes o seu volume de ditionitrito (DTT) a 0,1% (Sputalysin 10%; Calbiochem Corp., San Diego, CA); a mistura foi agitada por 15 segundos e consecutivamente aspirada e ejetada através de uma pipeta de Pasteur. O tubo de poliestireno foi então colocado em um agitador de mesa (Dade Tube Rocker; Baxter Diagnostics Corporation, Miami, FL) e agitada por 15 minutos. Para sustar o efeito do DTT sobre a suspensão de células, foi adicionado mais 4 vezes o volume de solução salina tamponada em fosfato de Dulbecco (D-PBS). A suspensão resultante foi filtrada através de um filtro de nylon com microporos de 48 µm (BBS Thompson, Scarborough, Ontario) para remover os restos celulares e o muco não dissolvido. Em seguida, foi realizada a contagem total de células (CTC) excluindo-se as células escamosas, utilizando-se um hemocitômetro de Neubauer modificado, e a viabilidade celular foi determinada através do método de exclusão pelo *trypan blue* (as células mortas aparecem em azul). Sessenta a oitenta microlitros da suspensão, ajustada para $1,0 \times 10^6$ /ml, foram colocados em recipientes para citocentrífuga Shandon III (Shandon Southern Instruments, Sewickley, PA) e 4 citospinas codificadas foram preparadas a 450 r.p.m. (rotações por minuto) por 6 min. Depois de secar ao ar livre, os citocentrifugados foram corados pelo corante de Giemsa para a contagem diferencial de células, sendo que 400

células não escamosas foram contadas na lâmina de melhor qualidade. Os resultados foram expressos como percentagem do total de células não escamosas.

O escarro foi considerado eosinofílico na presença de contagem diferencial de eosinófilos maior ou igual a 3,0%, e neutrofílico na presença de contagem diferencial de neutrófilos maior ou igual a 65%. Estes pontos de corte foram estabelecidos com base nos valores normais relatados por Belda *et al.*³⁸.

3.4 Análise estatística

Uma análise descritiva foi utilizada para sumarizar os resultados. Os dados de distribuição normal foram expressos como média e desvio padrão (DP) e aqueles com distribuição não normal, como contagem total e diferencial de células, foram expressos como mediana e amplitude do semiquartil (ASQ). O teste t não pareado foi empregado para a análise de variáveis contínuas na diferença entre os grupos. Para as variáveis categóricas, foi utilizado o teste do qui-quadrado. Valores de p inferiores a 0.05 foram considerados significantes.

4. RESULTADOS

Cinquenta e cinco exacerbações moderadas e graves da asma foram analisadas a partir de 48 indivíduos asmáticos. Três pacientes foram excluídos do estudo devido a impossibilidade de fornecerem escarro, mesmo após indução. Seis indivíduos participaram do estudo mais de uma vez devido a novas exacerbações. Cinco asmáticos participaram com 2 exacerbações distintas enquanto um paciente exacerbou três vezes. O intervalo de tempo mínimo entre as exacerbações foi de 60 dias.

4.1 Características inflamatórias das exacerbações

Trinta e sete (67,3%) exacerbações foram consideradas eosinofílicas, com proporção de eosinófilos no escarro $\geq 3\%$, enquanto que 18 (32,7%) foram de padrão não-eosinofílico. Uma exacerbação eosinofílica apresentou neutrofilia no escarro. Nove exacerbações não-eosinofílicas apresentaram inflamação neutrofílica, com proporção de neutrófilos no escarro $\geq 65\%$. Dez exacerbações foram ao mesmo tempo não-eosinofílicas e não-neutrofílicas.

A proporção de eosinófilos na amostra, descrita como mediana e ASQ, no grupo das exacerbações eosinofílicas foi de 30,0 (43,1) enquanto que no grupo das exacerbações não-eosinofílicas foi de 0,34 (0,47), com $p < 0,0001$. Ambas exacerbações diferiram significativamente ($p < 0,0001$) em relação a CTC, sendo estas 10,2 (10,8) e 31,8 (25,2) $\times 10^6$ células/mg, e a proporção de neutrófilos, sendo 23,0 (27,5) e 64,0 (34,5) nas exacerbações eosinofílicas e não-eosinofílicas, respectivamente. Embora ocorresse uma diferença estatisticamente significativa ($p = 0,03$) na viabilidade celular entre os dois grupos [78,9 (14,3)% nas exacerbações eosinofílicas e 90,4 (8,8)% nas não-eosinofílicas] esta não foi clinicamente relevante. As características celulares do escarro dos participantes estão expressas na Tabela 1 e Figura 1.

As distribuições de eosinófilos e neutrófilos por intervalos percentuais nos dois grupos estão representadas nas Figura 2 e 3 respectivamente.

4.2 Características clínicas dos participantes de acordo com o tipo inflamatório da exacerbação

Não houveram diferenças significativas entre uso de broncodilatador, corticóides inalados, escore de sintomas da asma e escore do QCA entre os dois grupos. Vinte e nove pacientes com exacerbação eosinofílica e 13 indivíduos com não-eosinofílica apresentaram história de atopia sem significância estatística. Os resultados das espirometrias também foram similares. As características demográficas dos participantes de acordo com as exacerbações, obtidas antes do tratamento, estão descritas na tabela 2.

O tempo de duração das exacerbações foi semelhante nos dois grupos. Da mesma maneira o escore de gripe e resfriado, os sintomas noturnos e diurnos, a presença de escarro aferido pela história clínica, ou mesmo a presença de escarro purulento identificado macroscopicamente pela amostra coletada também foram similares em ambos os grupos. Em números absolutos, a mesma quantidade de pacientes em ambos os grupos apresentaram episódios de pneumonia, com comprovação clínica e radiológica. Sinusopatia proporcionalmente foi semelhante nos dois grupos. As características clínicas das EMGA dos tipos eosinofílico e não-eosinofílico obtidas estão presentes na tabela 3.

Tabela 1: Características celulares das exacerbações moderadas e graves de asma.

Características	Eosinofílicas**	Não-eosinofílicas**	Total**	p
Exacerbações (n)	37	18	55	-----
Viabilidade (%)	78.9 (14.3)	90.4 (8.8)	82.7 (13.8)	p = 0,03
CTC (x 10 ⁶ / mg)	10.2 (10.8)	31.8 (25.2)	17.3 (19.6)	p< 0,0001
Neutrófilos	23.0 (27.5)	64 (34.5)	31.5 (42.2)	p< 0,0001
Eosinófilos	30 (43.1)	1.0 (1.2)	12.2 (35.8)	p< 0,0001
Macrófagos	29 (36)	32.5 (35)	30.2 (35.7)	NS
Linfócitos	1.0 (1.5)	0.5 (1.5)	0.75 (1.5)	NS

**Resultados expressos em mediana e amplitude do semiquartil (ASQ). n= número de exacerbações; CTC= contagem total de células. p= significância entre os grupos eosinofílicos versus não-eosinofílicos.

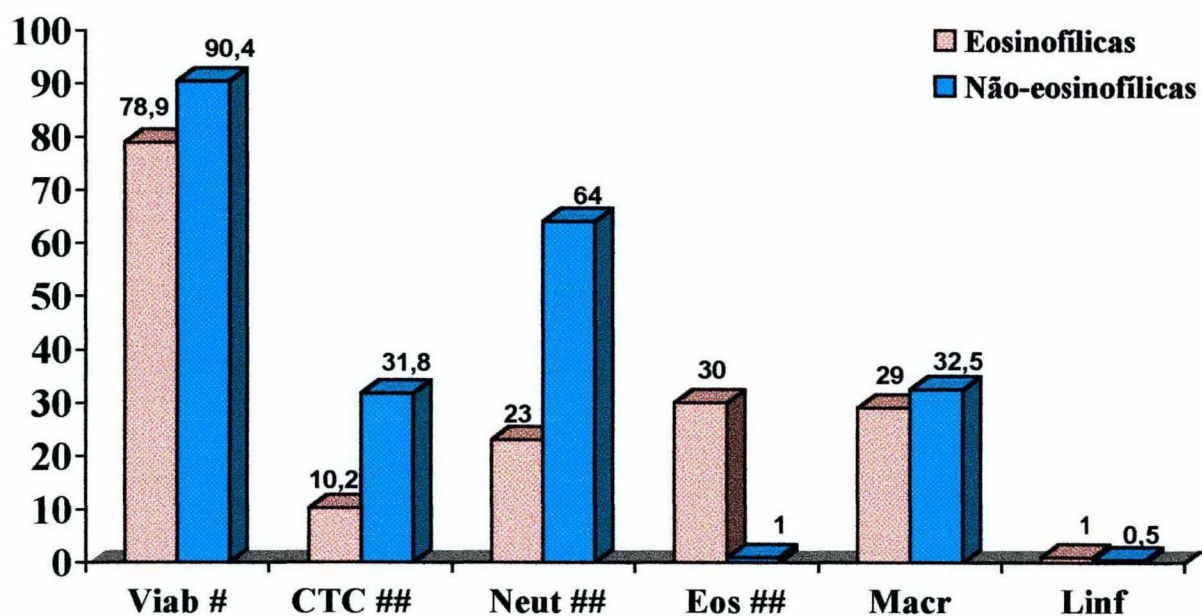


Figura 1 -Características celulares das exacerbações moderadas e graves de asma. Resultados expressos pela mediana dos percentuais. CTC: contagem total de células X 10^6 células/mg. Neut: neutrófilos; Eos: eosinófilos; Macr: macrófagos; Linf: linfócitos; p: significância entre os grupos eosinofílicos versus não-eosinofílicos; # = $p < 0,05$; ## = $p < 0,0001$.

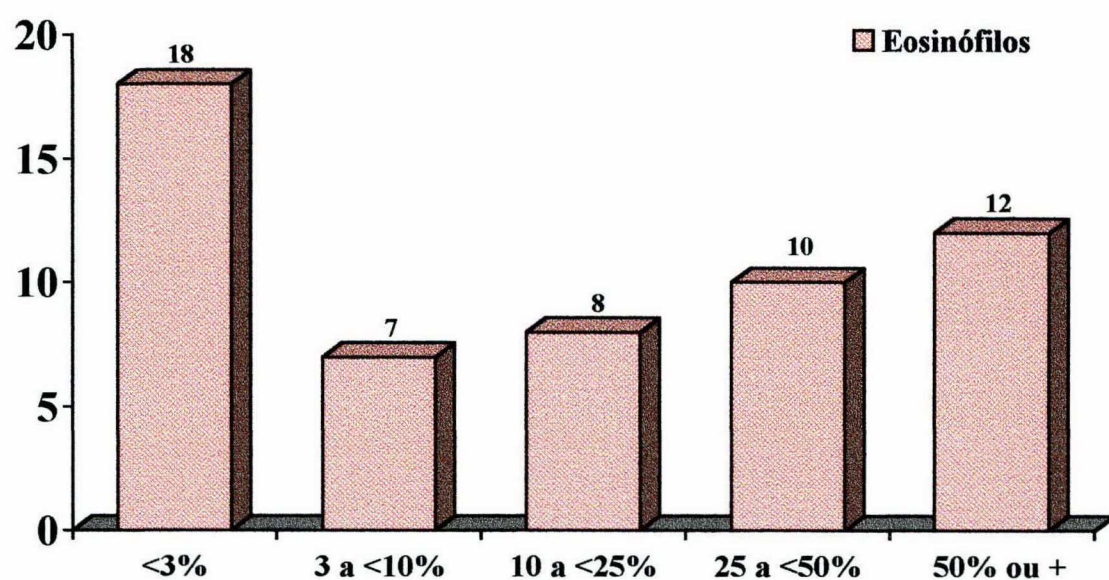


Figura 2- Distribuição de eosinófilos de acordo com o percentual encontrado no escarro em função do número de exacerbações.

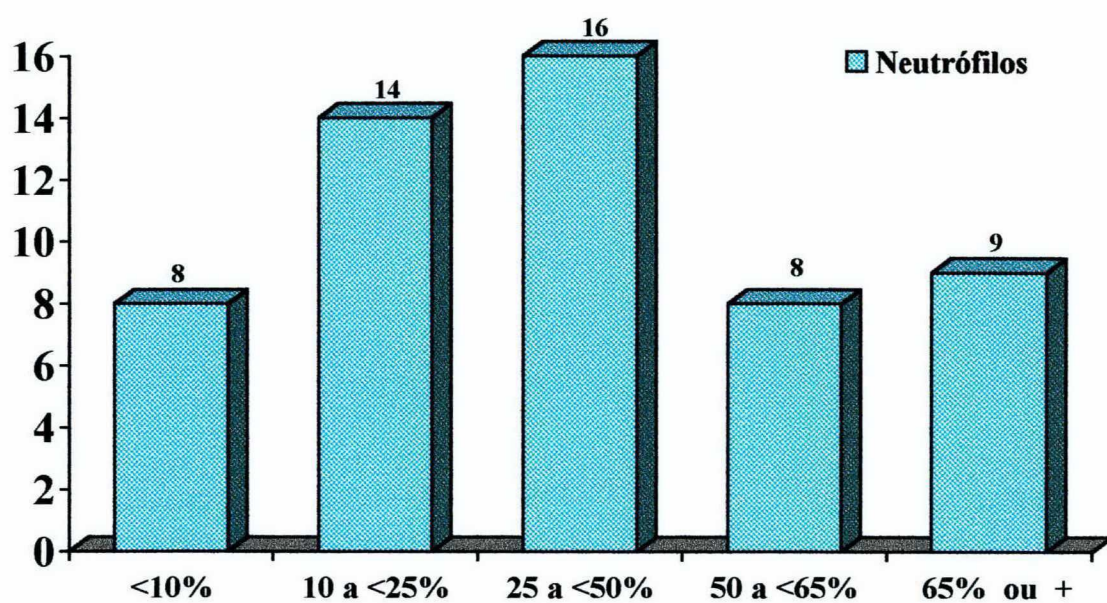


Figura 3 - Distribuição de neutrófilos de acordo com o percentual encontrado no escarro em função do número de exacerbações.

Tabela 2 . Características dos participantes de acordo com as exacerbações moderadas e graves dos tipos eosinofílicas e não-eosinofílicas.

	Exacerbação Eosinofílica	Exacerbação Não-eosinofílica	Total	p
Exacerbações, n (%)	37 (67.3)	18 (32.7)	55	-----
Idade, anos *	37.7 (13.4)	35.1 (12.8)	36.9 (13.1)	NS
Sexo, masculino (%)	12 (32.4)	4 (22.2)	16 (29.1)	NS
Tabagismo, atual / ex (n/n)	2/11	1/5	3/16	NS
História de atopia, n (%)	30 (81.1)	14 (77.8)	44 (80)	NS
VEF₁ - PB % previsto *	52.5 (11.5)	56.5 (9.9)	53.8 (11.1)	NS
VEF₁ - PB, L *	1.6 (0.4)	1.8 (0.7)	1.7 (0.6)	NS
Δ %_ em VEF₁ *	23.6 (19.1)	30.1 (22.8)	25.8 (20.5)	NS
Eosinofilia no sangue, 10⁹/L *	0.8 (0.4)	0.34 (0.47)	0.66 (0.52)	NS
Eosinofilia no escarro, % **	30 (43.1)	1.0 (1.2)	12.2 (35.8)	p<0,0001

Dados expressos pela * média e desvio padrão (DP); ** mediana e amplitude do semi-quartil (ASQ). n= número absoluto; % = percentagem; VEF₁ - PB= volume expiratório forçado no 1º segundo pós-broncodilatador; L= litros; p= significância entre os grupos eosinofílicos versus não-eosinofílicos. Valores previstos de VEF₁ segundo Crapo *et al.* ³⁵.

Tabela 3: Características clínicas das exacerbações moderadas e graves de asma dos tipos eosinofílicas e não-eosinofílicas.

	Eosinofílicas	Não-eosinofílicas	Total	p
Exacerbações, n (%)	37 (67.3)	18 (32.7)	55 (100)	----
“Duração” **	7.0 (17.0)	7.0 (22.0)	7.0 (17.0)	NS
Tosse, n (%)	29 (78.4)	14 (77.8)	43 (78.2)	NS
Sintomas diurnos, n (%)	32 (86.5)	16 (88.9)	48 (87.3)	NS
Sintomas noturnos, n (%)	31 (83.8)	17 (94.4)	48 (87.3)	NS
Uso de Salbutamol, µg/dia *	6.5 (4.4)	5.3 (4.9)	6.1(4.6)	NS
Em uso de CI, n (%)	18 (48.6)	10 (55.6)	28 (50.9)	NS
Uso de antibióticos, n (%)	10 (27.0)	4 (22.2)	14 (25.5)	NS
Escore gripe **	7.0 (8.0)	9.0 (14.5)	7.5 (10)	NS
Escore de sintomas *	22.5 (5.5)	22.3 (7.6)	22.1 (6.2)	NS
Resultado do QCA *	3.4 (1.0)	3.0 (1.1)	3.2 (1.0)	NS
Presença de escarro, n (%)	21 (56.8)	11 (61.6)	32 (58.2)	NS
Escarro purulento, n (%)	12 (32.4)	6 (33.3)	18 (32.7)	NS
Febre, n (%)	2 (5.4)	3 (16.7)	5 (9.1)	NS
Sinusite associada, n (%)	5 (13.5)	3 (16.7)	8 (14.5)	NS
Pneumonia associada, n (%)	2 (5.4)	2 (11.1)	4 (7.3)	NS

Dados expressos pela * média e desvio padrão (DP); ** mediana e amplitude do semi-quartil (ASQ). n= número de exacerbações; %= percentagem; CI= corticosteroide inalado; p= significância entre os grupos eosinofílicos versus não-eosinofílicos; “Duração”= mediana do tempo de duração das exacerbações em dias.

5. DISCUSSÃO

No presente estudo foi demonstrado que cerca de um terço das exacerbações moderadas e graves de asma, em adultos, são não-eosinofílicas e que do ponto de vista clínico e fisiológico as exacerbações eosinofílicas são indistinguíveis das não-eosinofílicas. Também foi demonstrado que as exacerbações não-eosinofílicas podem ser neutrofílicas ou não-neutrofílicas e que as eosinofílicas podem estar associadas à neutrofilia. Estas informações são importantes porque diferentes tipos de inflamações das vias aéreas podem requerer estratégias terapêuticas distintas.

Este é o primeiro estudo brasileiro a investigar as características inflamatórias das exacerbações da asma e um dos poucos da literatura internacional a investigar esse aspecto das exacerbações da asma. Pontos importantes do delineamento do estudo garantem a acurácia dos nossos resultados incluindo: 1- cautela com a seleção de um grupo significativo de indivíduos em crise asmática; 2- história clínica detalhada; 3- ausência de comorbidades crônicas e 4- documentação espirométrica das exacerbações, ajudaram a fortificar os resultados do estudo. Além disso, o método utilizado para o exame de indução do escarro e a técnica de processamento do mesmo, altamente reprodutíveis, forneceu medidas fiéis dos marcadores celulares que serviram para diferenciar condições, tipos de processos inflamatórios das vias aéreas¹⁷.

O fato de termos estudado estes pacientes de forma transversal, sem a preocupação em observar a cinética da inflamação em diferentes fases da exacerbação não diminui a relevância dos achados, uma vez que o presente estudo teve a duração de um ano. Por outro lado, a falta de comprovação do tipo de infecção associada pode ser considerada uma limitação do estudo. Contudo, a relação entre tipo de exacerbação, eosinofílica e não-eosinofílica, pode ser posteriormente investigada em outro estudo especificamente delineado para responder esta questão. No entanto, outros estudos, como os de Pizzichini MMM *et al.*²⁸ e Wark PAB *et al.*³⁹, usando métodos para a detecção de vírus e outros agentes infecciosos demonstraram que as exacerbações infecciosas são caracteristicamente do tipo neutrofílicas.

O presente estudo mostra achados similares aos de Turner e colaboradores²⁶. Estes autores foram os primeiros a observar que nem todos os pacientes com exacerbações leves e moderadas de asma apresentavam eosinofilia no escarro e que alguns apresentavam um

processo inflamatório caracterizado por aumento de neutrófilos nas vias aéreas. A partir destes dados começou-se a questionar a participação de outras células no complexo processo da inflamação da asma.

Fahy JV *et al.* ²⁷, em uma análise transversal, demonstraram que pacientes com exacerbações da sua asma, atendidos em um serviço de emergência, apresentavam escarro rico em neutrófilos. O estudo apresentado encontrou 9 exacerbações (16,4%) com inflamação neutrofílica. Porém outro trabalho, realizado por Pizzichini MMM *et al.* ¹⁸, demonstrou a prevalência de eosinófilos no escarros de 10 pacientes com exacerbação grave da asma. É possível que diferenças metodológicas entre estes dois estudos, tais como falta de documentação objetiva de exacerbação da asma²⁷ ou exclusão dos pacientes com escarro purulento¹⁸ possam explicar estas diferenças.

A heterogeneidade da resposta inflamatória nos asmáticos com exacerbação também foi relatada em outros dois estudos recentes examinando adultos ⁴⁰ assim como crianças ⁴¹ com exacerbação de asma. Os resultados destes estudos se comparam aos descritos na casuística apresentada.

A diversidade do processo inflamatório da asma não é apenas encontrada durante as exacerbações. Em um estudo recente, De Lee SV *et al.*, demonstraram a presença de escarro eosinofílico em 70,6% de 34 pacientes asmáticos estáveis virgens de tratamento com corticosteroide; nenhum paciente apresentou escarro neutrofílico ⁴². Godon *et al.* ⁴³ recentemente estudou se a presença de eosinófilos no escarro de 51 pacientes virgens de tratamento com corticóide inalado poderia prever a resposta ao tratamento. Em 29% dos pacientes constatou-se inflamação não-eosinofílica no escarro analisado. Contudo, estes autores não foram capazes de demonstrar que a presença de eosinófilos no escarro serve para prever resposta ao uso do corticóide inalado. Estes resultados tem sido questionados porque, neste estudo em particular, a ausência de um grupo placebo teria sido fundamental para afastar regressão em direção à média.

A distribuição celular no grupo eosinofílico foi variada, isto é, existiu diferentes percentuais de eosinófilos (3 a 89 % de eosinófilos no escarro), embora fossem pacientes com exacerbações moderadas e graves (Figura 2). A intensidade da proporção de eosinófilos não separa os pacientes de acordo com a gravidade.

Como já foi citado, a asma é considerada uma doença inflamatória crônica onde estão envolvidos diversos mecanismos fisiopatológicos. Assim, a asma poderia ser entendida como

uma doença de comportamento único e esperado. Porém a observação e constatação da presença de vários tipos de padrão inflamatório, reconhecidos pelo processo de indução de escarro, questiona o conceito já existente, sugerindo que a asma deveria ser considerada e estudada como uma síndrome.

Vários trabalhos têm mostrado que a corticoterapia produz uma diminuição do número de eosinófilos no escarro e melhora a sintomatologia de indivíduos asmáticos^{18, 44, 45}. Porém a dificuldade em discriminar os sintomas de acordo com os parâmetros clínicos e diferenciar o padrão inflamatório existente, faz com que pacientes exacerbados sejam medicados sem a preocupação em distingui-las. Os achados descritos até o momento sugerem que pacientes com escarro não-eosinofílico ou neutrofilico necessitam de uma nova abordagem terapêutica^{23, 46}. Esta hipótese requer futuras e mais bem detalhadas investigações.

6. CONCLUSÕES

1. EMGA podem apresentar-se com padrão não-eosinofílico.
2. Pacientes com EMGA não-eosinofílica apresentam escarro rico em neutrófilos e com elevado número de células .
3. Não foi possível discriminar, baseado nos parâmetros clínicos analisados, o tipo de inflamação das vias aéreas presente nas EMGA.
4. A importância terapêutica destes achados necessita de novas investigações.

7. REFERÊNCIAS

1. Viegi G, Annesi I, Matteelli G. Epidemiology of asthma. *Eur Respir Mon* 2003, 23; 1: 1-25.
2. Gross NJ. What is this thing called love? –or, defining asthma. *Am Respir Dis* 1980; 121: 203-204.
3. Bousquet J. Global initiative for asthma (GINA) and its objectives. *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 2s-5s.
4. III Consenso Brasileiro no Manejo da Asma. *J de Pneumol* 2002; 28 (supl 1): 6s-8s .
5. Brasil. Ministério da Saúde. Morbidade hospitalar do SUS de jan/1995 a nov/2001.
6. Roche WR, Beasley R, Williams JH, Holgate ST. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics: characterization, clinical and physiological correlations. *Lancet* 1989; i:520-524.
7. Djukanovic R, Roche WR, Wilson JW, Beasley CR, Twentyman OP, Howarth PH, et al. Mucosal inflammation in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142:434-457.
8. Koshino T, Teshima S, Fukushima W, et al. Identification of basophils by immunonistochemistry in the airways of post-mortem cases of fatal asthma. *Clin Exper Allergy*. 1993; 23: 919-925.
9. Pavord ID, Pizzichini MMM, Pizzichini E, Hargreave FE. The use of induced sputum to investigate airway inflammation. *Thorax* 1997; 52:498-501.
10. Corrigan CJ, Hartnell A, Kay AB. T Lymphocyte activation in acute severe asthma. *Lancet* 1988; i: 1129-1131.
11. Azzawi M, Johnston PW, Majundar S, Kay AB, Jeffery PK. T lymphocytes and activated eosinophils in airway mucosa in fatal asthma and cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 1477-1482.
12. Sunjiv S, Crotty TB, Kephart GM, et al.: Sudden onset fatal asthma. A distinct entity with few eosinophils and relatively more neutrophils in the airway submucosa. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 713-719.
13. National Asthma Education and Prevention Program. Expert pannel report 2: guidelines for the diagnosis and management of asthma. Bethesda, Maryland: NIH/National Heart, Lung and Blood Institute of Health. April 1997; Publication 97-4051.

14. Kendrick A H, Laszlo G. Patients perception of their asthma. Authors reply. [Latter] *BMJ* 1993; 1433-1434.
15. Ollerenshaw S.L., Woolcock A.J. Characteristics of the inflammation in biopsies from large airways of subjects with asthma and subjects with chronic airflow limitation. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:922-927.
16. Kirby JG, Hargreave FE, Gleich GJ, O'Byrne PM. Bronchoalveolar cells profiles of asthmatic and non asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136: 379-383.
17. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Efthimiadis A, Evans S, Morris MM, Squillace D, et al. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 308-317.
18. Pizzichini MMM, Pizzichini E, Clelland L, Efthimiadis A, Evans S, Dolovich J, et al. Sputum in severe exacerbations of asthma: kinetics of inflammatory indices after prednisone treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 154:1501-8.
19. Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, et al. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 1992; 47: 25-29.
20. Fahy JV, Liu J, Wong H, Boushey HA. Cellular and biochemical analysis of induced sputum from asthmatic and from healthy subjects. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 1126-1131.
21. Magnussen H, Holz O (Editorial). Monitoring airway inflammation in asthma by induced sputum. *Eur Respir J* 1999; 13: 5-7.
22. Magnussen H, Hargreave FE (Editorial). Noninvasive monitoring of airway inflammation. *Eur Respir J* 2000; 16: 1-2.
23. Pavord ID, Brightling CE, Woltmann G, Wardlaw AJ. Non-eosinophilic corticosteroid unresponsive asthma. *Lancet* 1999 Jun 26; 353 (9171): 2213-2214.
24. Pizzichini MM, Pizzichini E, Clelland L, et al. Prednisone-dependent asthma: inflammatory indices in induced sputum. *Eur Respir J* 1999; 13: 15-21.
25. Pizzichini E, Pizzichini MM, Gibson P, et al. Sputum eosinophilia predicts benefit from prednisone in smokers with chronic obstructive bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1511-1517.
26. Turner MO, Hussack P, Sears MR, Dolovich J, Hargreave FE. Exacerbations of asthma without sputum eosinophilia. *Thorax* 1995; 50: 1057-1061.

27. Fahy JV, Kim KW, Liu J, Boushey HA. Prominent neutrophilic inflammation in sputum from subjects with asthma exacerbation. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95:843-852.
28. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Efthimiadis A, Chauhan SL, Johnston SL, Hussack P, et al. Asthma and natural colds: inflammatory indices in induced sputum. A feasibility study. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1511-1517.
29. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Hargreave FE. Induced Sputum in the Management of Asthma. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine* 1998; 19(6):581-592.
30. Pizzichini, MMM (Editorial). Is sputum eosinophilia a good or poor predictor of benefit from inhaled corticosteroid therapy in asthma? *Eur Respir J*, 2002; 20: 1359-1361.
31. Calhoun WJ, Dick LB, Schwartz LB, Busse WW. A common cold virus, rhinovirus 16, potentiates airway inflammation after segmental antigen bronchoprovocation in allergic subjects. *J Clin Invest* 1994; 94: 2200-2208.
32. Marks GB, Dunn SM, Woolcock AJ. A scale for the measurement of quality of life in adults with asthma. *J Clin Epidemiol* 1992; 45: 461-472.
33. Juniper EF, O'Byrne PM, Guyatt GH, Ferrie PJ, King DR. Development and validation of a questionnaire to measure asthma control. *Eur Respir J* 1999; 14: 902-907.
34. American Thoracic Society. Standardization of spirometry: 1994 update. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1107-1136.
35. Crapo RO, Morris AH, Gardner RM. Reference spirometric values using techniques and equipment that meet ATS recommendations. *Am Rev Respir Dis* 1981; 123:659-64.
36. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Leigh R, Dujukanovic R, Sterk PJ. Safety of sputum induction. *Eur Respir J* 2002; 20 (suppl. 37): 9s-18s.
37. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Efthimiadis A, Hargreave FE, Dolovich J. Measurement of inflammatory indices in induced sputum: effects of selection of sputum to minimize salivary contamination. *Eur Respir J* 1996; 9:1174-1180.
38. Belda J, Leigh R, Parameswaran K, O'Byrne PM, Sears MR, Hargreave FE. Induced sputum cell counts in healthy adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:475-8.
39. Wark PAB, Johnston SL, Moric I, Simpson JL, Hensley MJ, Gibson PG. Neutrophils degranulation and cell lysis is associated with clinical severity in virus-induced asthma. *Eur Respir J* 2002; 19:68-75.

40. Gibson PG, Simpson JL, Saltos N. Heterogeneity of airway inflammation in persistent asthma: evidence of neutrophilic inflammation and increased sputum interleukin-8. *Chest* 2001; 119:1329-1336.
41. Gibson PG, Norzila MZ, Fakes K, Simpson J, Henry RL. Pattern of airway inflammation and its determinants in children with acute severe asthma. *Pediatr Pulmonol* 1999; 28: 261-270.
42. De Lee SV, Zimmermann CT, Maia JV, Rocha CC, Marques LJ, Pizzichini E, et al. Inflamação das vias aéreas em asmáticos virgens de tratamento com esteróides: características do escarro induzido em nosso meio. *J Pneumologia* (in press).
43. Godon P, Boulet LP, Malo JL, Cartier A, Lemièrre C. Assessment and evaluation of symptomatic steroid-naïve asthmatics without sputum eosinophilia and their response to inhaled corticosteroids. *Eur Respir J* 2002; 20: 1364-1369.
44. Gibson PG, Hargreave FE, Girgis-Gabardo A, Watson RM, Morris M, Denburg JA, et al. Chronic cough with eosinophilic bronchitis and examination for variable airflow obstruction and response to corticosteroid. *Clin Exp Allergy* 1995; 25:127-132.
45. Brightling CE, Ward R, Wardlaw AJ, Pavord ID. Airway inflammation, airway responsiveness and cough before and after inhaled budesonide in patients with eosinophilic bronchitis. *Eur Respir J* 2000; 15:682-686.
46. Jatakanon A, Uasuf C, Maziak W, Lim S, Chung KF, Barnes PJ. Neutrophilic Inflammation in Severe Persistent Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1532-1539.

NORMAS ADOTADAS

Este trabalho foi digitado de acordo com as normas de resolução número 001/2001 do Colegiado do Curso em Graduação em Medicina da Universidade Federal de Santa Catarina, terceira edição.

**TCC
UFSC
CM
0499**

Ex.1

N.Cham. TCC UFSC CM 0499

Autor: Bini, Marcello

Título: Características inflamatórias da



972812951

Ac. 253648

Ex.1 UFSC BSCCSM